УТВЕРЖДАЮ
Начальник главного управления ветеринарии Государственного агропромышленного комитета СССР
А.Д.Третьяков
1987 г.

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
по лабораторной диагностике стафилококкоза животных

1. Общие положения.

1.1. Стафилококкоз - инфекционная болезнь сельскохозяйственных животных, пушных зверей и птиц, характеризующаяся гнойно-воспалительными процессами в различных органах и тканях, артритами, маститами, эндометритами, а в некоторых случаях - сепсисом со смертельным исходом.

1.2. Возбудитель болезни - Staphylococcus aureus - крупные неподвижные грамположительные кокки, располагающиеся неправильными скоплениями, а также одиночно или попарно.

1.3. Диагноз на стафилококкоз устанавливают по результатам лабораторного исследования с учетом клинических данных.

1.4. Лабораторная диагностика стафилококкоза включает микроскопию мазков, выделение культур стафилококков с последующей их идентификацией и изучением патогенных свойств.

1.5. Для исследования в лабораторию посылают трупы мелких животных и птиц целиком, от трупов крупных животных направляют части паренхиматозных органов, головной мозг, кровь из сердца; от больных животных, в зависимости от клинических признаков - абортированные плоды, истечения из полости матки, содержимое абсцессов, синовиальную жидкость из воспаленных суставов.

1.6. Патологический материал для исследования на стафилококкозную

gost.e-ecolog.ru

инфекции (ут от животных, не подвергавшихся лечению антибиотиками, сульфаниламидными или нитрофурановыми препаратами в течение последни IO дней.

2. Микроскопическое исследование.

2.I. Из доставленного материала готовят мазки и окрашивают их по Граму.

В мазках обнаруживают крупные грамположительные кокки, располагающиеся скоплениями в виде гроздьев, в мазках из гноя могут быть парные кокки, короткие цепочки.

3. Бактериологическое исследование.

3.1. Высевы из патологического материала делают в МПБ, на МПА или молочно-солевой агар (pH сред 7,2-7,4). Высевы можно производить и на кровяной агар.

Посевы инкубируют при температуре 37-38°С в течение I8-20 ч.

3.2. В МПБ отмечают интенсивное равномерное помутнение среды, на дно пробирки - рыхлый осадок. Иногда появляется пристеночное серо вато-белое кольцо или пленка.

На МПА и молочно-солевом агаре стафилококки образуют круглые, выпуклые с ровными краями, выпуклые колонии белого, кремового, золотисто- или лимонно-желтого цвета.

3.3. У выделенных культур изучают морфологические, культуральные биохимические и патогенные свойства.

3.4. Для изучения биохимических и гемолитических свойств суточную культуру стафилококка пересевают в среды Гисса с глюкозой, лактозой, мальтозой, сахарозой, маннитом, дульцитом и на глюкозо-кровяной агар Цейсслера.

S.aureus ферментирует с образованием кислоты без газа глюкозу, маннит, мальтозу, сахарозу, не ферментирует лактозу и дульцит, на глюкозо-кровяном агаре Цейсслера образует β-гемолиз.

4. Определение патогенности возбудителей.

4.I. Определение патогенности проводят в реакции плазмокоагуляции, по дермонекротической пробе или биопробой на мышатах.

4.2. Постановка реакции плазмокоагуляции.

В реакции используют сухую кроличью плазму, выпускаемую предприятиями Минздрава СССР. Для работы сухую плазму разводят согласно прилагаемому постановлению.

При необходимости приготовления плазмы в лаборатории у кролика берут кровь из ушной вены или сердце в пробирку с 5,4-ым раствором лимонно-кислого натрия (2 мл раствора на 8-I0 мл крови). Цитратную кровь центрифугируют при 3000 об/мин в течение I0 мин, затем плазму

отсасывают и переносят в стерильные пробирки, которые закрывают ватными пробками и хранят в холодильнике до 3 нед. Перед употреблением плазму разводят стерильным физиологическим раствором 1:5.

Подготовленную для исследования плазму разливают по 0,5 мл в стерильные уленгутовские пробирки по количеству изучаемых культур. Затем в пробирку вносят 2 капли бульонной или одну петлю агаровой 18-24-часовой культуры. Одновременно ставят контроль плазмы без добавления культуры.

Пробирки помещают в термостат при температуре 37-38°С. Учет реакции проводят через каждый час в течение 5-6 ч. При отсутствии коагуляции пробирки выдерживают при комнатной температуре 18 ч.

При положительной реакции плазмокоагуляции образуется сгусток, который не выпадает из пробирки при наклоне. В случае, когда коагулировала не вся плазма, сгусток плавает в ней.

4.3. Дермонекротическую пробу ставят на кроликах (лучше белой масти) массой 2-2,5 кг. Накануне у кролика на боку в 2 местах выстригают шерсть на площади 2х2 см. Суточную бульонную культуру вводят внутрикожно в выстриженные участки кожи в дозе 0,2 мл.

При положительном результате на месте введения культуры через сутки появляется покраснение, на вторые сутки кожа темнеет и образуется некроз.

Наблюдение за кроликами ведут в течение 4 дн.

4.4. При выделении от птиц культур стафилококков, не обладающих плазмокоагулирующими свойствами, их патогенность определяют на 1-2-суточных цыплятах.

Суточную бульонную культуру в дозе 0,1 мл вводят 2 цыплятам интраорбитально по внешний угол глазницы между глазным яблоком и краем орбиты.

Гибель цыплят наступает на 3-5 сут.

Культуру считают патогенной при выделении ее из паренхиматозных органов и костного мозга павших цыплят.

Наблюдение за цыплятами ведут в течение 5 сут.

5. Лабораторный диагноз считают установленным при выделении из патологического материала культуры со свойствами, характерными для *S.aureus* , и установлении ее патогенных свойств.

6. Срок исследования до 8 сут.

gost.e-ecolog.ru